

使用 120 样品瓶位 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 和双 FID Agilent 8890 气相色谱系统分析血醇含量

作者

Scott Hoy
安捷伦科技有限公司

摘要

血醇含量 (BAC) 测试是世界各地法医实验室使用的一种重要检测方法。虽然针对驾驶人员的法定乙醇限量因地区而异，但法医实验室的检测任务长期积压却是一个普遍存在的问题。本应用简报介绍了使用 120 样品瓶位 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 以及配备双柱和双火焰离子化检测器 (FID) 的 Agilent 8890 气相色谱系统对 BAC 进行的分析。8697-XL Tray 将 8697 的精度和智能功能与扩展的 120 个样品瓶容量样品架集成在一起。在双柱、双 FID 配置中结合使用 8697-XL Tray 和 8890 气相色谱仪，获得了出色的乙醇线性 (0.025%–0.3%)，在 0.05% 浓度下样品瓶间重现性为 2.0% RSD，在 0.4% 浓度下无乙醇残留。

前言

BAC 测试是许多法医和诊断实验室使用的成熟的常规检测方法。方法参数可能因司法管辖区而异；但顶空气相色谱和覆盖法定血醇限量的线性乙醇校准模型是一种常用的方法。顶空进样常用于 BAC 分析，因为与标准液体进样不同的是，该方法不会将非挥发性样品基质注入仪器。而是将样品密封在样品瓶中，通过加热使挥发性成分（包括乙醇及其代谢物）蒸发。将蒸气注入气相色谱，非挥发性基质则保留在样品瓶中，生成简化的色谱图，不存在多余的峰和基线干扰。

这种样品引入方法通过避免仪器消耗品（例如进样口衬管和色谱柱）暴露于非挥发性基质中的盐和蛋白质，大幅延长了它们的使用寿命。此外，除了添加内标 (ISTD) 外，无需对样品执行任何复杂的净化步骤或特殊的前处理。因此可实现快速样品前处理，结合较长的仪器正常运行时间，在不影响方法性能的情况下大大提高了分析人员和实验室的吞吐量^[1]。本应用简报介绍了使用 8697-XL Tray 以及配备双柱和双 FID 的 8890 气相色谱系统对 BAC 进行的分析。

实验部分

Agilent 8890 气相色谱仪，配置分流/不分流进样口 (SSL) 和双 FID。使用热追踪传输线通过 SSL 进样口将 8697-XL Tray 与气相色谱仪直接连接。通过一根较短的预柱将进样口与一个不带吹扫功能的分流器连接，该分流器与 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性 (UI) 主分析色谱柱和 Agilent J&W DB-BAC2 UI 确认色谱柱相连，通过单次进样实现双重同步分离。表 1 详细列出了仪器部件和消耗品，表 2 详细列出了方法中使用的化学标准品。

表 1. 安捷伦仪器部件和消耗品

部件和消耗品	
描述	货号
钳口样品瓶, 20 mL	5190-2286
钳口盖和隔垫	5183-4477
进样口衬管, 超高惰性, 内径 2 mm	5190-6168
预柱, 0.5 m × 0.53 mm (去活熔融石英管)	160-2535-10
色谱柱 1: DB-BAC1 UI	123-9334UI
色谱柱 2: DB-BAC2 UI	123-9434UI
CFT 不吹扫两通分流器	G3181-60500

表 2. 化学标准品

标准品		
描述	货号	测试
安捷伦血醇校验混标	5190-9765	重现性/分离度
安捷伦乙醇校准试剂盒	G3440-85035	乙醇校准
安捷伦多组分乙醇校准试剂盒	G3440-85036	交叉污染检查
1-丙醇	34871 (Millipore Sigma)	内标

配制 1 L 0.1% (v/v) 正丙醇水溶液（由 Millipore 分装）储备液作为内标。每个顶空样品由 450 μ L ISTD 溶液和 50 μ L 样品组成，每个样品瓶的总体积为 500 μ L。所有溶液均保存在 4 °C 的冰箱中。表 3 显示了气相色谱仪和顶空进样器的方法参数。

气相色谱循环时间

气相色谱循环时间是优化顶空进样器的自动化，从而大幅提高通量的重要参数。简单来说，气相色谱循环时间是从注入样品到系统下一次“就绪”的时间。更具体而言，它是气相色谱采集时间、柱温箱冷却时间（针对非恒温方法）、每个控制区的温度和压力平衡时间以及计算机/软件处理时间的总和。平衡时间的变化可能由实验室环境的变化导致（例如门打开导致压力变化或冷却期间在附近进行的气相色谱放空），通常建议进行约 1 分钟的缓冲液添加。在本应用简报中，使用 5 分钟的运行时间和 6 分钟的气相色谱循环时间。

如果气相色谱循环时间设置过短，可以将系统编程为“中止”序列、“跳过”样品或“等待”气相色谱就绪。可以在“序列操作”下方的 8697-XL Tray 方法设置中设置该选项，如图 1 所示。为了帮助用户设置理想的气相色谱循环时间，OpenLab CDS 中的活动日志将计算使用该方法运行样品的实际气相色谱循环时间。图 2 显示了活动日志中报告的气相色谱循环时间的屏幕截图。

Sequence Actions

What should the sequence do if it encounters the following:

Vial Missing	Skip
Wrong Vial Size	Pause
Leak Detected	Skip
System Not Ready	Abort
The system always logs detected issues	

图 1. Agilent OpenLab CDS 中 Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 的方法参数设置，用于控制顶空进样器遇到问题时的序列行为

表 3. Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 和 8890 气相色谱系统方法参数

Agilent 8697 顶空进样器-XL Tray 条件		Agilent 8890 气相色谱系统条件	
柱温箱温度	70 °C	进样口温度	150 °C
定量环温度	80 °C	载气	氮气
传输线温度	90 °C	分流比	10:1
样品瓶平衡时间	7 min	控制模式	恒压
进样持续时间	1 mL/min	进样口压力	21 psi
气相色谱循环时间	6 min	隔垫吹扫	3 mL/min
样品瓶规格	20 mL	载气节省	2 min 后降至 20 mL/min
样品瓶振荡	250 次振荡/min (9 级设置)	柱温箱升温程序	40 °C 恒温 5 min
样品瓶填充模式	压力	FID A/B 温度	250 °C
填充压力	15 psi	FID A/B 空气流速	400 mL/min
加压气体	氮气	FID A/B 氢气流速	30 mL/min
压力平衡时间	0.05 min	FID A/B 补偿气流速 (N ₂)	25 mL/min
定量环填充模式	定制		
定量环升压速率	40 psi/min		
定量环最终压力	1.5 psi		
定量环平衡时间	0.05 min		
萃取模式	单次		
萃取后放空样品盘压力	开启		
进样后吹扫	定制		
吹扫流速	200 mL/min		
吹扫时间	3 min		

Date and Time (yyyy-MM-dd)	User	Description	Details
2023-03-13 17:13:24-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 17:07:07-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 17:00:54-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:54:35-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:22	
2023-03-13 16:48:20-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:42:01-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:21	
2023-03-13 16:35:51-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:22	
2023-03-13 16:29:35-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:26	
2023-03-13 16:23:20-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:17:03-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:28	
2023-03-13 16:10:49-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:04:31-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:27	
2023-03-13 15:58:17-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	

图 2. Agilent OpenLab CDS 软件活动日志的屏幕截图，显示了 BAC 样品序列的气相色谱循环时间计算值

结果与讨论

校准

对含有 50、80、100、200 和 300 mg/dL 乙醇水溶液的校准标样进行三次重复分析。此外，通过向顶空样品瓶中加入 25 μ L 50 mg/dL 的标准品和 25 μ L 水制备 25 mg/dL 的标样（保持最终体积为 0.5 mL，与其他标样一致），同样进行三次重复分析。

使用乙醇与正丙醇的相对响应（Y 轴）和乙醇与正丙醇的相对含量（X 轴）作图，并在 OpenLab CDS 中建立未加权线性曲线模型。将模型设置为忽略原点，并使用各校准浓度的平均值进行计算。FID A 的 R^2 值为 0.99994，FID B 为 0.99993。图 3 和图 4 分别显示了 FID A 和 FID B 的校准模型。

校准曲线

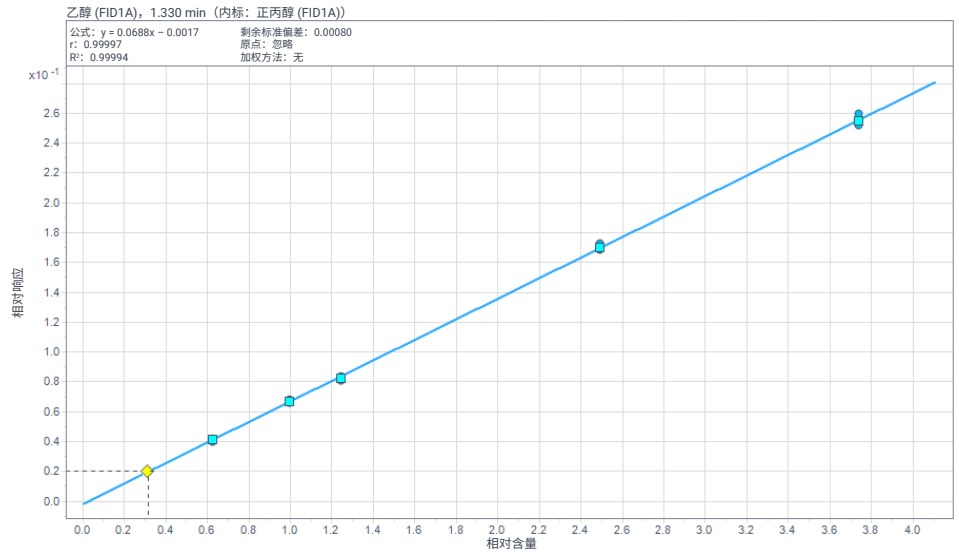


图 3. FID A (Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性主分析色谱柱) 上的乙醇校准模型

校准曲线

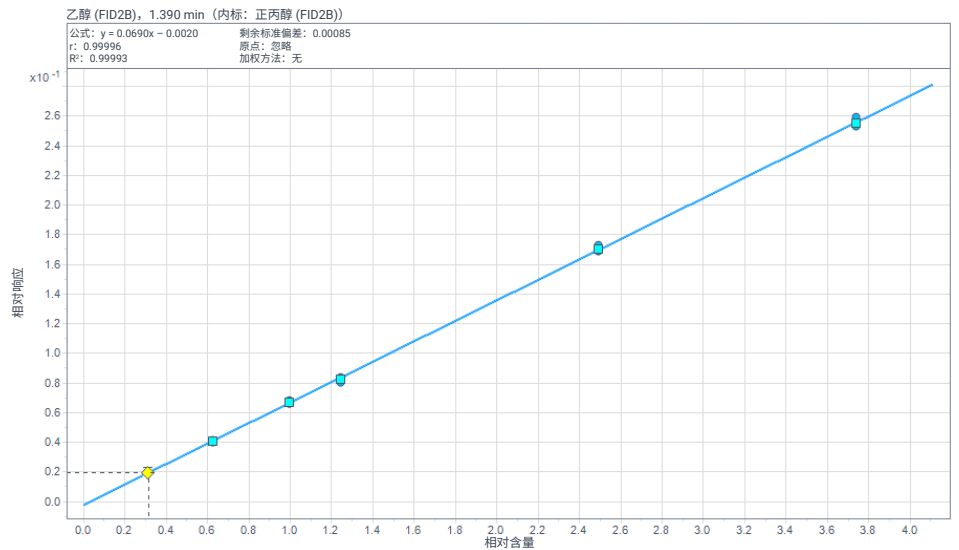


图 4. FID B (Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性确认色谱柱) 上的乙醇校准模型

重现性

安捷伦血醇校验混标（货号 5190-9765）是 12 种化合物的混合物，用于确认系统是否具有适当的色谱性能。每种化合物的浓度为 50 mg/dL，使该混合物成为表征方法精密度的出色标准品。图 5 和图 6 分别显示了血醇校验混标在 DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI 色谱柱上的分离情况，表 4 列出了峰归属和保留时间。为了验证该方法的重现性，对检验混标连续进样并分析 12 次，结果如表 5 所示。

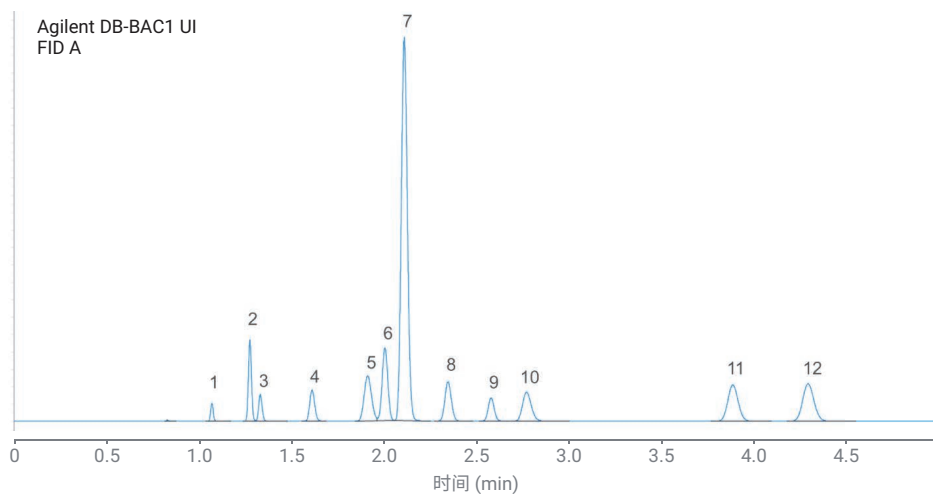


图 5. Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性色谱柱上安捷伦血醇校验混标的 FID A 色谱图

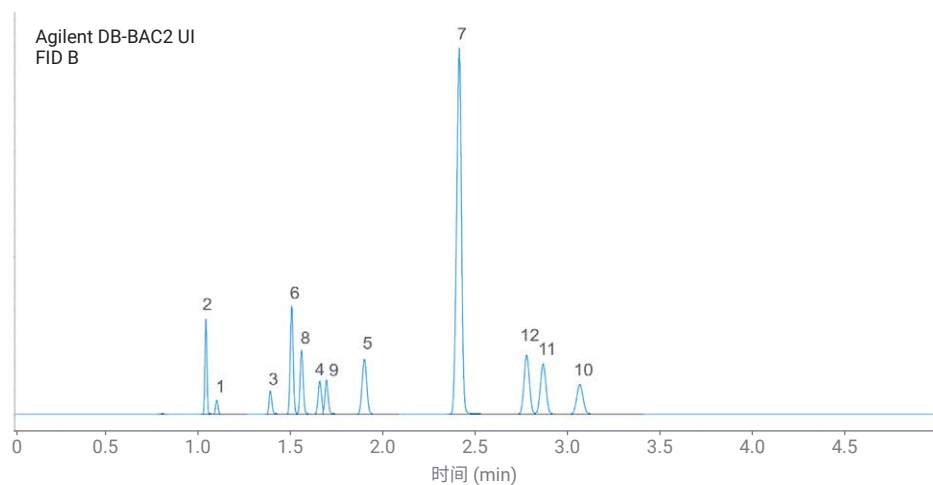


图 6. Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性色谱柱上安捷伦血醇校验混标的 FID B 色谱图

表 4. 图 5 和图 6 中所示的安捷伦血醇校验混标的峰归属和保留时间 (RT)

峰标记	化合物	RT DB-BAC1 UI (min)	RT DB-BAC2 UI (min)
1	甲醇	1.066	1.095
2	乙醛	1.271	1.036
3	乙醇	1.327	1.385
4	异丙醇	1.606	1.653
5	叔丁醇	1.906	1.895
6	丙醛	1.999	1.501
7	正丙醇 (ISTD)	2.103	2.409
8	丙酮	2.339	1.555
9	乙腈	2.571	1.689
10	2-丁醇	2.762	3.062
11	乙酸乙酯	3.873	2.864
12	2-丁酮	4.279	2.774

交叉污染

为了证明样品从顶空柱温箱完全转移到气相色谱仪,对含有甲醇、乙醇、异丙醇、丙酮和正丙醇 (ISTD) 的 400 mg/dL 标准

品进行了 10 次重复分析,并在其中插入空白运行。图 7 和图 8 分别显示了 DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI 色谱柱的 10 次重复运行的叠加色谱图及随后空白运行的

放大图。由两种色谱柱的空白信号可以看出,标准品中的所有化合物均无可检出的交叉污染。

表 5. 安捷伦血醇校准混标中各化合物的保留时间、峰面积响应和峰高的重现性 (%RSD)

名称	信号描述	%RSD		
		RT	峰面积	高度
2-丁醇	FID1A	0.022	1.342	1.441
	FID2B	0.010	1.363	1.406
2-丁酮	FID1A	0.012	1.810	1.838
	FID2B	0.000	1.804	1.767
乙醛	FID1A	0.000	2.036	1.998
	FID2B	0.000	2.048	1.911
丙酮	FID1A	0.017	1.544	1.511
	FID2B	0.026	1.536	1.493
乙腈	FID1A	0.000	1.497	1.444
	FID2B	0.000	1.534	1.362
乙醇	FID1A	0.000	2.018	2.034
	FID2B	0.034	1.995	2.021

名称	信号描述	%RSD		
		RT	峰面积	高度
乙酸乙酯	FID1A	0.008	2.747	2.777
	FID2B	0.016	2.759	2.834
异丙醇	FID1A	0.025	1.455	1.513
	FID2B	0.028	1.454	1.435
甲醇	FID1A	0.047	2.454	2.443
	FID2B	0.000	2.706	2.224
正丙醇	FID1A	0.022	1.378	1.455
	FID2B	0.022	1.424	1.530
丙醛	FID1A	0.000	2.442	2.321
	FID2B	0.000	2.258	2.259
叔丁醇	FID1A	0.021	1.310	1.319
	FID2B	0.027	1.341	1.297

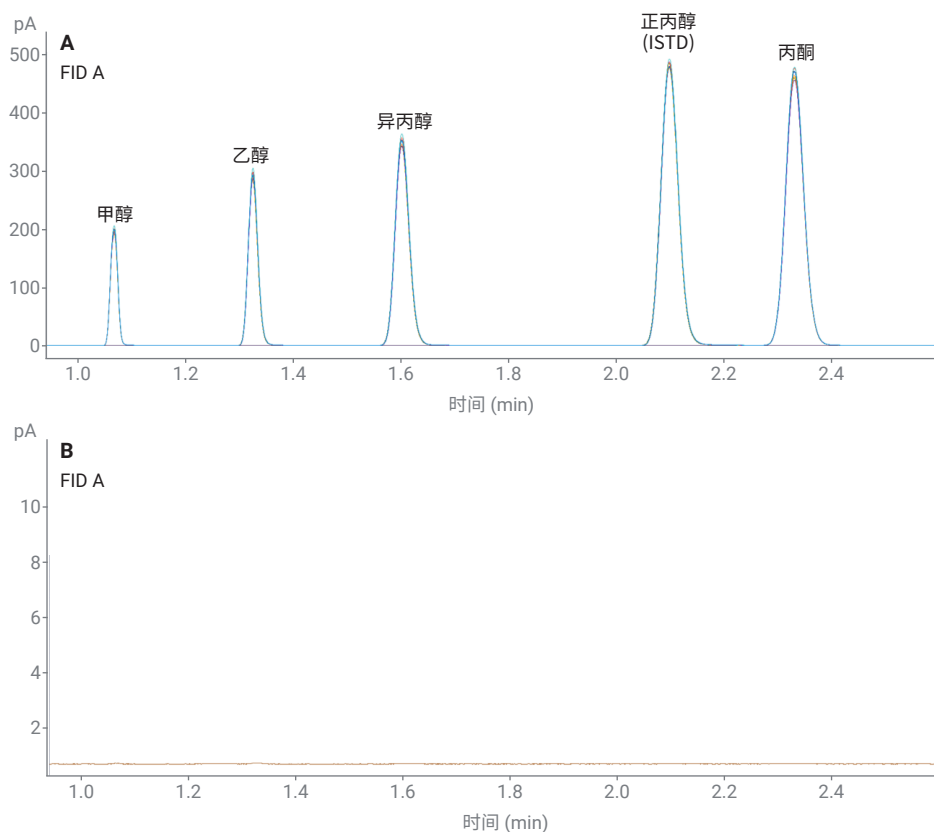


图 7. 在 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性主分析色谱柱 (FID A) 上 400 mg/dL 混标 10 次重复运行的色谱图叠加图 (A) 以及随后的空白运行色谱图 (B)

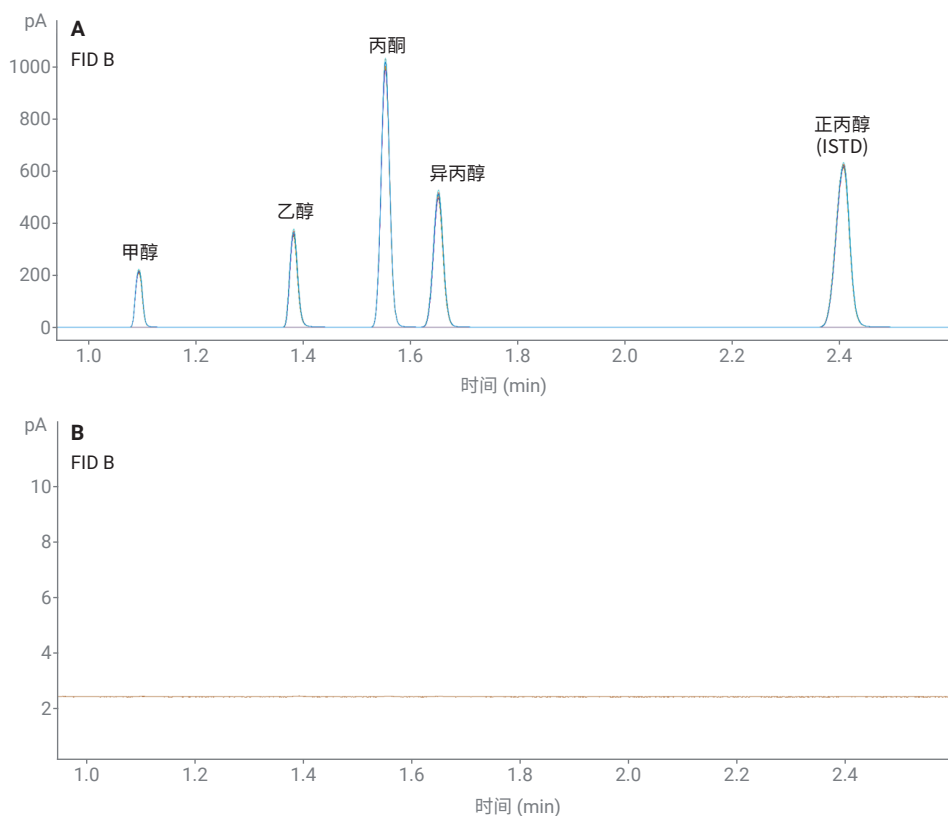


图 8. 在 Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性确认色谱柱 (FID B) 上 400 mg/dL 混标 10 次重复运行的色谱图叠加图 (A) 以及随后的空白运行色谱图 (B)

结论

8697-XL Tray 以出色的精度、稳定性和智能功能为支撑，将样品瓶容量扩展至 120 个。将这些特征与 Agilent 8890 气相色谱仪相结合，可以实现零交叉污染并具有出色线性的 BAC 测试，以及最终解决样品积压所需的功能。

参考文献

1. 使用集成 Agilent 8697 顶空进样器在 8890 气相色谱-双 FID 系统上进行血醇分析, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5994-3126ZHCN, 2022

www.agilent.com

RA45056.5805902778

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2023
2023 年 5 月 18 日, 中国出版
5994-6090ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

 **Agilent**
Trusted Answers